

УДК 631.423.4:631.895:57.083.12

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕНИЯ КЫЗЫЛОРДИНСКОЙ ОБЛАСТИ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

¹Идрисова Д.Т., ¹Мухамедова Н.С., ¹Жумадилова Ж.Ш., ²Абдиева К.М.,
¹Шорабаев Е.Ж., ³Саданов А.К.

¹Филиал «Прикладная микробиология» Института микробиологии
и вирусологии, Кызылорда, e-mail: imv_pm@mail.ru;

²Атырауский государственный университет им. Х. Досмагамбетова;

³Институт микробиологии и вирусологии, Алматы, e-mail: imv_rk@list.ru

Агротехнические и агрохимические мероприятия оказывают положительное влияние на все почвенные процессы, в частности на микробиологический состав и на ферментативную активность почвы. Изучено содержание нефти в нефтезагрязненной почве месторождения Акшабулак Кызылординской области. Исследовано влияние органических удобрений в 5 и 7% нефтезагрязнении на скорость деградации нефти в почве. Наибольший процент деградации нефти наблюдается в варианте 5% загрязнением и составляет 36,7%, так как процентное содержание нефти меньше с сравнительным вариантом соответственно. Наблюдалось увеличение дегидрогеназной активности в 2 раза в почве с 5% нефтезагрязнением. Процесс деградации нефти в почве контролировали гравиметрическим методом. Выявлено, что внесение в нефтезагрязненную почву органических удобрений и проведение агрохимических мероприятий способствует снижению нефти в почве.

Ключевые слова: биоремедиация, нефтяное загрязнение, почва, органические удобрения, гравиметрия, микроорганизмы, мелкоделяночный участок

STUDY OF BIOREMEDIATION OF SOILS WITH DIFFERENT DEGREES OF OIL-CONTAMINATED KYZYLORDA REGION IN THE LABORATORY CONDITIONS

¹Idrisova D.T., ¹Mukhamedova N.S., ¹Zhumadilova Z.S., ²Abdieva K.M.,
¹Shorabaev E.Z., ³Sadanov A.K.

¹Branch «Applied microbiology» of Institute of Microbiology and Virology,
Kyzylorda, e-mail: imv_pm@mail.ru;

²Kh. Dosmukhamedov Atyrau State University;

³Institute of Microbiology and Virology, Almaty, e-mail: imv_rk@list.ru

Agromeliorative and farming practices have a positive impact on all soil processes, particularly in the microbiological composition and enzymatic activity of soil. The content of oil in the oil-polluted soil Akshabulak Kyzylorda. The influence of organic fertilizers 5 and 7% of oil pollution on the rate of oil degradation in the soil. The highest percentage of oil degradation is observed in Embodiment 5% contamination and with 36,7% as the percentage of oil is less than with the comparative embodiment, respectively. Dehydrogenase activity, an increase in the soil 2 times with 5% contaminated. The process of oil degradation in the soil was monitored by gravimetric method. Revealed that the introduction in the oil contaminated soil organic fertilizers and conducting agricultural activities reduces the oil in the soil.

Keywords: bioremediation, oil pollution, soil, organic fertilizer, gravimeter, microorganisms, small plot of land

В результате развития нефтедобывающих и нефтеперерабатывающих производств повышается риск аварийных нефтеразливов и, как следствие этого, негативных экологических эффектов, проявляющихся в изменении физических, химических и биологических свойств окружающей среды. Нефть и нефтепродукты являются приоритетными загрязнителями природной среды. Уже сейчас отдельные нефтедобывающие территории по состоянию окружающей среды приближаются к районам экологического бедствия. Происходят глубокие изменения практически всех компонентов окружающей

среды: почв и структуры почвенного покрова, грунтов и недр, поверхностных и подземных вод, биоты и воздуха [1].

Влияние нефтяных загрязнений на почву проявляется в изменении ее физических, физико-химических и химических свойств, в торможении интенсивности биологических процессов. Хронические разливы нефти приводят к быстрой потере продуктивности земель или полной деградации ландшафтов. Нефтяное загрязнение отличается от других антропогенных воздействий тем, что оно дает не постоянную, а «залповую» нагрузку на среду, вызывая быструю

ответную реакцию. Во всех мероприятиях, связанных с ликвидацией последствий загрязнения, с восстановлением нарушенных земель, необходимо исходить из главного принципа: не нанести экосистеме больший вред, чем тот, который уже нанесен при загрязнении [2].

Целью исследования является изучение процессов биоремедиации нефтезагрязненной почвы в разных степенях загрязнения, также влияния органоминеральных удобрений и проведении агромерелиоративных и агротехнических мероприятий на стимуляции самоочищающей способности почв месторождения «Акшабулак» Кызылординской области.

Материалы и методы исследования

Мелко-деляночные опыты проводились на полигоне ТОО «Тимур Сохрану» Кызылординской

области. Объектами исследований являются почвы, искусственно загрязненные нефтью месторождения «Акшабулак». В контрольном варианте использовали нефтезагрязненную почву (без внесения удобрений). Ферментативную активность почв определяли методами почвенной энзимологии [3]. Содержание нефти в почве определяли гравиметрическим методом [4].

Результаты исследования и их обсуждение

До внесения органоминеральных удобрений содержание нефти в почве на экспериментальном участке составляло 5 и 7%. На экспериментальные участки были внесены органические удобрения (птичий помет и навоз) и минеральные удобрения (нитроаммофоска и аммиачная селитра). В течение трех месяцев наблюдали за содержанием нефти в почве экспериментального участка (табл. 1).

Таблица 1

Содержание нефти в почве экспериментального участка

Варианты опыта	Содержание нефти, г/кг	Деструкция нефти, %
1 месяц		
Контроль (загрязненная почва Н-5%)	49,0	3,3
Загр. почва (Н-5%) + ОМУ	46,3	12,3
Контроль (загрязненная почва Н-7%)	68,7	4,3
Загр. почва (Н-7%) + ОМУ	66,7	11,0
2 месяц		
Контроль (загр. почва Н-5%)	48,3	5,7
Загр. почва (Н-5%) + ОМУ	42,0	26,7
Контроль (загрязненная почва Н-7%)	68,3	5,7
Загр. почва (Н-7%) + ОМУ	64,0	20,0
3 месяц		
Контроль (загрязненная почва Н-5%)	47,7	7,7
Загр. почва (Н-5%) + ОМУ	39,0	36,7
Контроль (загрязненная почва Н-7%)	68,0	6,7
Загр. почва (Н-7%) + ОМУ	63,3	22,3

Анализ содержания нефти в почве экспериментального участка через 1 месяц показал, что в контрольных вариантах (Н-5%, Н-7%) содержание нефти снизилось на 3,3 и 4,3%. В опытном варианте, со степенью нефтезагрязнения почвы 7% деструкция нефти составила 11,0%, а в варианте с 5% нефтезагрязнением – 12,3%.

Анализ содержания нефти в почве экспериментального участка через 2 месяца показал, что в контрольных вариантах нефтезагрязненных почв (Н-5%, Н-7%) содержание нефти снизилось на 5,7%. В варианте с внесением ОМУ (Н-7%) деструкция нефти через 2 месяца составила 20,0%. Наибольший процент

деструкции нефти в почве наблюдался в варианте (Н-5% + ОМУ) – 26,7%.

Анализ содержания нефти в почве через 3 месяца показал, что в контрольном варианте (Н-7%) содержание нефти снизилось на 6,7%, а в контрольном варианте (Н-5%) – на 7,7%.

Внесение органоминеральных удобрений способствовало усилению процесса деструкции нефти в почве. Так, содержание нефти в почве с 7% нефтезагрязнением снизилось на 22,3%, а в почве с 5% нефти – на 36,7%. Также были определены содержания тяжелых металлов (Pb, Zn, Cd) в почве полевого эксперимента вначале и по истечении 4 месяцев после внесения органоминеральных удобрений (табл. 2).

Таблица 2

Численность основных групп почвенных микроорганизмов экспериментального участка до внесения органоминеральных удобрений

Варианты опыта	Численность микроорганизмов, КОЕ/г почвы				
	ОМЧ	Спорообразующие бактерии	Мицелиальные грибы	Актиномицеты	УОМ
Нефтезагрязненная почва – 5%	$4,3 \pm 2,4 \cdot 10^4$	$2,3 \pm 1,7 \cdot 10^3$	$1,0 \pm 1,1 \cdot 10^4$	$4,0 \pm 2,3 \cdot 10^4$	$5,3 \pm 2,6 \cdot 10^4$
Нефтезагрязненная почва – 7%	$6,3 \pm 2,9 \cdot 10^4$	$3,6 \pm 2,2 \cdot 10^3$	$2,0 \pm 1,6 \cdot 10^4$	$4,3 \pm 2,4 \cdot 10^4$	$9,0 \pm 3,4 \cdot 10^4$

Во всех вариантах опыта численность основных групп почвенных микроорганизмов до внесения органоминеральных удобрений составляла порядка 10^4 КОЕ/г, за

исключением спорообразующих бактерий, которых было на порядок меньше.

Проведен микробиологический анализ через 3 месяца после внесения ОМУ (табл. 3).

Таблица 3

Численность основных групп почвенных микроорганизмов экспериментального участка

Вар. опыта	Численность микроорганизмов, КОЕ/г почвы					
	ОМЧ	Спорообраз. бактерии	Мицелиальные грибы	Актиномицеты	Олиготрофные микроорганизмы	УОМ
1 месяц						
Конт. загр. почва (Н-5%)	$9,6 \pm 3,5 \cdot 10^4$	$1,1 \pm 0,3 \cdot 10^4$	$3,6 \pm 2,2 \cdot 10^4$	$3,3 \pm 2,1 \cdot 10^4$	$1,4 \pm 0,4 \cdot 10^5$	$9,6 \pm 3,5 \cdot 10^4$
Загр. почва (Н-5%) + ОМУ	$3,4 \pm 0,6 \cdot 10^5$	$2,0 \pm 0,5 \cdot 10^4$	$4,6 \pm 2,4 \cdot 10^4$	$2,4 \pm 0,5 \cdot 10^5$	$0,8 \pm 1,0 \cdot 10^5$	$2,0 \pm 0,5 \cdot 10^5$
Конт. загр. почва (Н-7%)	$8,6 \pm 3,3 \cdot 10^4$	$9,0 \pm 3,4 \cdot 10^3$	не выявлены	$3,3 \pm 2,1 \cdot 10^4$	$6,6 \pm 2,9 \cdot 10^4$	$9,0 \pm 3,4 \cdot 10^4$
Загр. почва (Н-7%) + ОМУ	$8,7 \pm 1,1 \cdot 10^5$	$2,8 \pm 0,6 \cdot 10^4$	$4,3 \pm 2,4 \cdot 10^4$	$4,8 \pm 0,8 \cdot 10^5$	$6,0 \pm 0,8 \cdot 10^5$	$1,5 \pm 0,4 \cdot 10^5$
2 месяц						
Конт. загр. почва (Н-5%)	$5,6 \pm 2,7 \cdot 10^4$	$1,1 \pm 0,3 \cdot 10^4$	не выявлены	$2,0 \pm 1,6 \cdot 10^4$	$2,6 \pm 1,8 \cdot 10^5$	$4,6 \pm 2,4 \cdot 10^4$
Загр. почва (Н-5%) + ОМУ	$3,1 \pm 0,6 \cdot 10^5$	$8,9 \pm 1,1 \cdot 10^4$	$1,0 \pm 1,1 \cdot 10^4$	$4,1 \pm 0,7 \cdot 10^5$	$2,5 \pm 0,5 \cdot 10^5$	$4,0 \pm 0,7 \cdot 10^5$
Конт. загр. почва (Н-7%) + ОМУ	$2,0 \pm 1,6 \cdot 10^4$	$2,5 \pm 0,5 \cdot 10^4$	$0,6 \pm 0,9 \cdot 10^4$	$2,3 \pm 1,7 \cdot 10^4$	$1,0 \pm 1,1 \cdot 10^4$	$7,3 \pm 3,1 \cdot 10^4$
Загр. почва (Н + 7%) + ОМУ	$2,3 \pm 1,7 \cdot 10^5$	$7,8 \pm 1,0 \cdot 10^4$	$1,3 \pm 1,3 \cdot 10^4$	$3,6 \pm 2,2 \cdot 10^5$	$5,3 \pm 2,6 \cdot 10^5$	$1,6 \pm 2,9 \cdot 10^5$
3 месяц						
Конт. загр. почва (Н-5%)	$9,6 \pm 3,5 \cdot 10^4$	$1,8 \pm 0,5 \cdot 10^4$	$3,3 \pm 2,1 \cdot 10^4$	$6,6 \pm 2,9 \cdot 10^4$	$2,2 \pm 0,5 \cdot 10^5$	$9,6 \pm 3,5 \cdot 10^4$
Загр. почва (Н-5%) + ОМУ	$6,1 \pm 0,9 \cdot 10^6$	$2,5 \pm 0,6 \cdot 10^4$	$1,3 \pm 1,3 \cdot 10^4$	$2,3 \pm 0,5 \cdot 10^5$	$5,9 \pm 0,9 \cdot 10^5$	$1,2 \pm 0,1 \cdot 10^6$
Конт. (загр. почва (Н-7%))	$7,0 \pm 3,0 \cdot 10^4$	$4,0 \pm 0,7 \cdot 10^4$	$1,3 \pm 1,3 \cdot 10^4$	$3,3 \pm 2,1 \cdot 10^4$	$1,0 \pm 3,6 \cdot 10^4$	$8,6 \pm 3,3 \cdot 10^4$
Загр. почва (Н-7%) + ОМУ	$8,9 \pm 1,1 \cdot 10^5$	$1,7 \pm 0,5 \cdot 10^4$	$1,6 \pm 1,4 \cdot 10^4$	$1,0 \pm 0,4 \cdot 10^5$	$4,0 \pm 0,7 \cdot 10^5$	$4,7 \pm 0,8 \cdot 10^5$

Микробиологический анализ нефтезагрязненной почвы экспериментального участка показал, что произошло увеличение количества основных почвенных микроорганизмов.

Общая микробная численность в почве экспериментального участка через 1 месяц в контрольных вариантах составила $9,6 \pm 3,5 \cdot 10^4$ и $8,6 \pm 3,3 \cdot 10^4$ КОЕ/г, тогда как в опытных – $3,4 \pm 0,6 \cdot 10^5$ и $8,7 \pm 1,1 \cdot 10^5$ КОЕ/г, что на порядок больше.

Численность спорообразующих бактерий возросла на порядок по сравнению с исходными данными во всех вариантах с 5% нефтезагрязнением и в опытном варианте с 7% загрязнением.

Количество олиготрофных микроорганизмов в контрольном и опытном варианте с 5% загрязнением было примерно на одном уровне, тогда как в почве с 7% нефти в опытном варианте их

содержание было на порядок выше, чем в контроле.

Численность мицелиальных грибов изменилась незначительно.

Внесение ОМУ способствовало увеличению количества УОМ. В почве с 5% нефти оно возросло на порядок.

Результаты исследования показали, что через 2 месяца значительных изменений в численности микроорганизмов не произошло. В опытных вариантах с ОМУ количество актиномицетов и УОМ было на порядок выше, чем в контроле. Общая микробная численность в почве экспериментального участка через 3 месяца в контрольных вариантах составила $9,6 \pm 3,5 \cdot 10^4$ и $7,0 \pm 3,0 \cdot 10^4$ КОЕ/г, тогда как в вариантах с внесением ОМУ – 10^5 и 10^6 КОЕ/г, что на 1–2 порядка больше.

Численность спорообразующих бактерий и мицелиальных грибов во всех вариантах составила 10^4 КОЕ/г.

Через 3 месяца в контрольных вариантах (Н-5%, Н-7%) численность актиномицетов и УОМ составляла 10^4 КОЕ/г, тогда как в опытных вариантах она была выше на порядок.

Численность олиготрофных бактерий в контрольном варианте со степенью нефтезагрязнения (Н-7%) была на порядок меньше по сравнению с другими вариантами.

Почвенно-энзиматические методы позволяют определять не количественное содержание ферментов в почве, а активность ферментов, находящихся преимущественно в иммобилизованном состоянии на поверхности почвенных коллоидов и частично в почвенном растворе. На основе изучения активности комплекса почвенных ферментов делаются выводы о ферментативной активности почв как одного из показателей биологической активности и, в целом, состояния почв, лежащего в основе ранней диагностики в системе почвенного мониторинга [5].

В табл. 4 представлены результаты определения ферментативной активности почв через 3 месяца после постановки эксперимента.

Таблица 4
Ферментативная активность почв

Варианты опыта	Дегидрогеназа, (мг ТФФ/10 г/24 ч)	Уреаза, CO ₂ в мл
Контроль 5%	1,576	0,35
Нефтезагрязненная почва – 5%	2,077	1,75
Контроль 7%	0,893	0,25
Нефтезагрязненная почва – 7%	1,891	0,5

Результаты исследования показали, что через 3 месяца после закладки эксперимента наблюдалось увеличение дегидрогеназной активности в 2 раза в почве с 5% не-

фтезагрязнением. В контрольном варианте с 7% нефти она изменилась незначительно. При внесении ОМУ активность дегидрогеназы повысилась в 2,7 раза в варианте (Н-5%) и в 2,2 раза в варианте (Н-7%).

Наблюдалось снижение уреазной активности в почве с 5% нефтезагрязнением, тогда как в почве с 7% загрязнением она не изменилась. Внесение ОМУ способствовало увеличению активности уреазы.

Выводы

Таким образом, проведенные исследования показали, что внесение органоминеральных удобрений способствует повышению темпов очищения почвы с разной степенью нефтезагрязнения, наибольший результат отмечен в варианте с 5% нефтезагрязнением, при этом активизируется почвенная микрофлора и увеличивается ферментативная активность.

Также нужно отметить, что нефтезагрязнение до 5%, поддается очистки, с помощью агрономелиоративных и агротехнических мероприятий.

Список литературы

1. Биологическая очистка нефтезагрязненных почв Западной Сибири с применением препаратов «Мелафен» и «Fyre-Zyme». Научная библиотека диссертаций и авторефератов disserCat. URL: <http://www.dissercat.com/content/biologicheskaya-ochistka-neftezagryaznennykh-pochv-zapadnoisibirskiy-s-primeneniem-preparatov-#ixzz3J10Keuuz> (дата обращения: 24.11.2014).
2. Коронелли Т.В., Комарова Т.И., Ильинский В.В. Интродукция бактерий рода *Rhodococcus* в тундровую почву, загрязненную нефтью // Прикладная биохимия и микробиология. – 1997. – № 2. – С. 198–201.
3. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. – М.: Наука, 2005. – 252 с.
4. РД 52.18.647-2003. Методические указания. Определение массовой доли нефтепродуктов в почвах. Методика выполнения измерений гравиметрическим методом.
5. Ферменты в почве. <http://tele-conf.ru/problemyi-zhiznedeyatelnosti-organizma-i-ekologiya/fermentyi-v-pochve.html>. (дата обращения: 02.12.2014 г.).

References

1. Biological treatment of contaminated soils in Western Siberia using drugs «Melaphen» and «Fyre-Zyme». Nauchnaya library of dissertations and abstracts disserCat. URL: <http://www.dissercat.com/content/biological-cleaning-of-oil-contaminated-soil-western-siberia-using-of-preparation-#ixzz3J10Keuuz> (date of treatment: 24.11.2014).
2. Koronelli T.V., Komarov T.I., Il'inskiy V.V. Introduction of bacteria of the genus *Rhodococcus* in tundra soils contaminated with oil // Applied Biochemistry and microbiology. 1997. no. 2. pp. 198–201.
3. Khaziev F.H. Methods of soil enzymology. M.: Nauka, 2005. 252 p.
4. RD 52.18.647-2003. Methodical instructions. Determination of the mass fraction of oil in the soil. Measurement technique of gravimetric method.
5. Enzymes in soil. <http://tele-conf.ru/problemyi-zhiznedeyatelnosti-organizma-i-ekologiya/fermentyi-v-pochve.html>. (date of treatment: 02.12.2014.).

Рецензенты:

Ибадуллаева С.Ж., д.б.н., профессор кафедры «Биология и география», Кызылординский государственный университет им. Коркыт Ата, г. Кызылорда;

Тохетова Л.А., д.с.-х.н., заместитель директора, ТОО «Казахский научно-исследовательский институт рисоводства им. И. Жахаева», г. Кызылорда.

Работа поступила в редакцию 27.12.2014.